

- Medvedev G. S. (1978): *Keys to the insects of the European part of the USSR*. Volume III, Hymenoptera, Part I. Nauka, Moscow, Russia (In Russian).
- Nikolaev, G. V. & Kolov, S. V. (1998): Blister beetles (Coleoptera: Meloidae) Kazakhstan: biology, systematics, the fauna. Казак Университети, Алматы, Казахстан (In Russian).
- Noskiewicz, J. (1936): Die pflanzen Colletes-Arten. Prace Naukowe Wydawnictwo Towarzystwa Naukowego w Krakowie, 3: 1-532.
- Stojnić, B., Mladenović, M. (2001): Pojava meleoze u Banatu. Prvi Kongres veterinara Republike Srpske. Banja Luka, 27-30. oktobar 2001. Zbornik kratkih sadržaja, str. 156-158.

Abstract

Apalus bimaculatus (Linnaeus, 1761), A NEW SPECIES OF MELOIDAE IN SERBIA

Radoslava Spasić¹, Draga Graora¹, Ljubiša Stanisavljević², Dragica Smiljanić¹

¹University of Belgrade, Faculty of Agriculture

²University of Belgrade, Faculty of Biology

E-mail: rspasic@agrif.bg.ac.rs

Apalus bimaculatus (Linnaeus, 1761), which belongs to the family of blister beetles (Coleoptera: Meloidae) has been recorded for the first time in Serbia. It was found in February 2013, in an urban Belgrade area, in the locality of Zemun. Its life cycle is connected with the solitary bee species *Colletes cunicularius* (Linnaeus) (Hymenoptera: Colletidae), which was found one month later in the same place. Collected adults of *A. bimaculatus* were reared in laboratory until the first instar larvae - triungulin larvae hatched out from the laid eggs.

Key words. *Apalus bimaculatus*, first record, Serbia

NOVI PRAVCI ZAŠTITE PAPRIKE I PARADAJZA OD BAKTERIOZNE PEGAVOSTI

Milan Šević¹, Katarina Gašić², Aleksa Obradović³

¹Institut za povrtarstvo, Smederevska Palanka

²Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

³Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd

E-mail: sevicmilan@yahoo.com

Rad primljen: 26.09.2014.

Prihvaćen za štampu: 17.10.2014.

Izvod

Bakteriozna pegavost paprike i krastavac plodova paradajza koju prouzrokuju bakterije *Xanthomonas* kompleksa, spada u red rasprostranjenih i ekonomski veoma značajnih bolesti paprike i paradajza. Gajenje otpornih genotipova i primena

preparata na bazi streptomicina i jedinjenja bakra ne obezbeđuju zadovoljavajući efekat zaštite, usled pojave novih rasa bakterije i razvoja sojeva rezistentnih prema antibioticima i jedinjenjima bakra. Proizvođači paprike i paradajza nemaju adekvatna sredstva za borbu protiv ovog patogena, jer standardni baktericidi često nisu dovoljno efikasni kada vremenski uslovi pogoduju razvoju bolesti. Usled nedostatka otpornih sorti, kao i efikasnih sredstava za zaštitu, istraživači pokušavaju da pronađu alternativna rešenja kojima bi se omogućila efikasna kontrola ove bolesti. Jedino se integracijom pozitivnog efekta različitih metoda može postići odgovarajući efekat zaštite. Biološke metode (primena bakteriofaga) i neke novije alternativne metode (aktivatori sistemne opornosti), ukazuju na mogućnost razvoja efikasne strategije za suzbijanje *X. euvesicatoria*.

Ključne reči: paprika, paradajz, *Xanthomonas euvesicatoria*, jedinjenja bakra, antibiotici, bakteriofagi, aktivatori otpornosti biljaka

UVOD

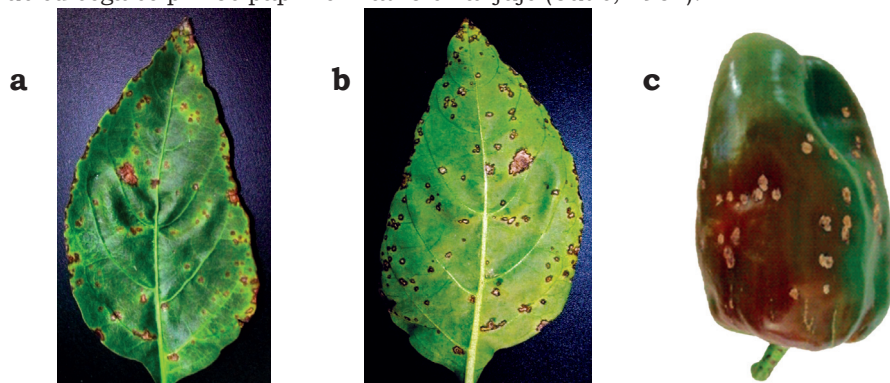
Bakteriozna pegavost paprike i krastavost plodova paradajza koju prouzrokuju bakterije *Xanthomonas* kompleksa ekonomski su najznačajnije bakterioze ovih gajenih biljaka. Pri povoljnim uslovima za razvoj bolesti, zaštita paprike i paradajza od ovih bakterija predstavlja nerešiv problem. Tradicionalne mere za suzbijanje prouzrokovala bakteriozne pegavosti paprike i paradajza obuhvataju primenu plodoreda, setvu zdravog semena poreklom iz nezaraženih plodova, kao i dezinfekciju semena, proizvodnju zdravog rasada, odstranjivanje i uništavanje biljnih ostataka, gajenje manje osetljivih sorti i primenu baktericida. Sve ove mere nisu dovoljno efikasne kada vremenski uslovi pogoduju intenzivnom razvoju ove bakterioze. Gajenje otpornih genotipova i primena preparata na bazi streptomicina i jedinjenja bakra ne obezbeđuju zadovoljavajući efekat zaštite, usled pojave novih rasa bakterije i razvoja sojeva rezistentnih prema antibioticima i jedinjenjima bakra. Proizvođači paprike i paradajza nemaju adekvatna sredstva za borbu protiv ovih patogena, jer standardni baktericidi često nisu dovoljno efikasni kada vremenski uslovi pogoduju intenzivnom razvoju bolesti. U cilju razvoja efikasnog programa kontrole prouzrokovala bakteriozne pegavosti paprike i paradajza, mnogi istraživači proučavaju nove metode u suzbijanju ovog patogena. Prema novijim literaturnim podacima, biološke (primena bakteriofaga) i neke novije alternativne metode (primena aktivatora opornosti), ukazuju na mogućnost razvoja efikasne strategije za suzbijanje *Xanthomonas* vrsta.

***Xanthomonas euvesicatoria* - PATOGEN PAPRIKE I PARADAJZA**

Bakteriozna pegavost prouzrokovana *Xanthomonas* vrstama, *X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria*, *X. perforans* i *X. gardneri* (Jones i sar., 2004), spada u red ekonomski najznačajnijih bolesti paprike i paradajza u svetu, posebno u uslovima tropske i suptropske klime. Dugi niz godina smatralo se da ovu bolest prouzrokuje bakterija *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, relativno homogena vrsta (Dye et al., 1964; Jones et al., 1998). Međutim, krajem prošlog veka, došlo se do novih saznanja, da populaciju bakterije čine dve genetički i fenotipski različite grupe bakterija (Stall et al., 1994) koje su Vauterin i saradnici (1995) diferencirali u *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (grupa A) i *Xanthomonas vesicatoria* (grupa B). Jones i saradnici (1998) su među patogenima paradajza identifikovali još dve *Xanthomonas* grupe, C i D. Nešto kasnije saopšteno je da grupe A, C i D međusobno imaju manje od 70% DNK sličnosti, kao i sa tipskim sojem *X. axonopodis* i sa tada klasifikovanim vrstama u okviru *Xanthomonas* roda (Jones et al.,

2004). To je dovelo do najnovije klasifikacije *Xanthomonas* spp. patogena paprike i/ili paradajza na *X. euvesicatoria* (grupa A), *X. vesicatoria* (grupa B), *X. perforans* (grupa C) i *X. gardneri* (grupa D). Sojevi poreklom iz paprike, pripadnici grupe A (*X. euvesicatoria*), najšire su rasprostranjeni i ekonomski najznačajniji. *X. vesicatoria* i *X. gardneri* mogu imati značajan uticaj u regionima u kojima se nalaze. Sojevi bakterije *Xanthomonas perforans* do sada su izolovani samo iz paradajza. Sojevi grupe D prvobitno su identifikovani u našoj zemlji (Šutić, 1957) i zajedno sa identičnim sojevima iz Kostarike zadržali su status vrste kao *X. gardneri* (Jones et al., 2004, Ritchie et al., 1991).

Bakterije napadaju sve nadzemne delove biljaka paprike: list, stablo, cvet i plod. Na naličju lista paprike u početku se pojavljuju sitne pege, nepravilnog oblika (Sl. 1a). Ove pege su tamnozelenene, vlažne i blago ispupčene. Kasnije se šire i postaju poligonalne i ograničene nervima. Središte pega postaje svetlije i suvo, okruženo uzanom tamnomrkom zonom (Sl. 1b). Obolelo lišće sve više žuti i opada. Jako napadnute biljke ostaju bez lišća. Parazit napada i cvetnu peteljku. Tada cvetovi, kao i mladi plodovi, zajedno s napadnutom peteljkom otpadaju (Sl. 1c), usled čega se prinos paprike znatno smanjuje (Šutić, 1957).



Slika 1. *Xanthomonas euvesicatoria*. Nekrotična pegavost lišća (a i b) i kras-tavost plodova (c) paprike. Prirodna infekcija. (Foto: A. Obradović).

Na biljkama paradajza bakterija napada list, stablo, cvast i plod. Na listu se pojavljuju manje, vlažne ili uljaste pege, nepravilnog oblika, oivičene nervima. Vremenom središnji deo ovih pega postaje mrk, a periferni mrk do ljubičast. Kasnije, pege se povećavaju i spajaju, usled čega nastaje nekroza većeg dela liske. Nekrotične zone se lako lome i ispadaju. Najveće štete kod paradajza nastaju usled razvoja mrkih pega na mladim plodovima. Mladi plodovi se nepravilno razvijaju i deformišu, što u jačem stepenu utiče na njihov spoljni izgled. Pegе mogu zahvatiti veliku površinu ploda, obolelo tkivo u okviru pega puca, obrazujući tako pukotine ili kraste različitog oblika. Vlažno i toplo vreme pogoduje širenju bolesti (Šutić, 1957).

Parazit se prenosi semenom i obolelim biljnim ostacima, na kojima se održava do sledeće vegetacije, kada nastaju zaraze - prvo sejanaca, a kasnije i odraslih biljaka. Bakterija prodire kroz stome. Kišne kapi, vetar, a naročito voda prilikom zalivanja useva, potpomažu širenju bolesti (Arsenijević, 1997).

U našoj zemlji, najznačajnija i najrasprostranjenija *Xanthomonas* vrsta je *X. euvesicatoria* koja se nalazi na A2 karantinskoj listi štetnih organizama Evropske organizacije za zaštitu bilja (European Plant Protection Organization, EPPO), kao i na A2 listi karantinski štetnih organizama Republike Srbije.

SUZBIJANJE PROUZROKOVAČA BAKTERIOZNE PEGAVOSTI PAPRIKE I PARADAJZA

Tradicionalne mere za suzbijanje prouzrokovaca bakteriozne pegavosti paprike obuhvataju primenu plodoređa, setvu zdravog semena poreklom iz nezaraženih plodova, kao i dezinfekciju semena, upotrebu zdravog rasada, odstranjivanje biljnih ostataka, gajenje manje osetljivih sorti i primenu baktericida (Jones et al., 1986; Arsenijević, 1997). Pronalaženje gena otpornosti i njihovo uvođenje u programe selekcije radi stvaranja otpornih komercijalnih genotipova zadatak je na kome rade mnogi istraživači. Međutim, za sada ne postoji komercijalni genotip paradajza ili paprike koji je otporan na sve rase ovog patogena. Od baktericida, najčešće su u upotrebi preparati na bazi bakra, sami ili u kombinaciji sa etilenbis-ditiokarbamatima (EBDC), kao što su maneb i mankozeb. Samostalna primena preparata na bazi bakra je manje efikasna od njihovih kombinacija sa EBDC fungicidima što potvrđuju mnogi autori (Marco et al., 1983). Međutim, kao posledica česte primene preparata na bazi bakra, registrovani su sojevi *X. euvesicatoria* tolerantni na sve bakarne formulacije ili slabo osetljivi na kombinaciju sa EBDC fungicidima (Marco et al., 1983; Adaskaveg et al., 1985).

Upotreba antibiotika, u prvom redu streptomicina, u zaštiti bilja od bakterioza započela je pedesetih godina prošlog veka. Ubrzo nakon početka njihove primene pojavili su se rezistentni sojevi u populaciji patogena. Zbog eventualnih posledica po životnu sredinu i ljudsko zdravlje, primena antibiotika u zaštiti bilja postala je u poslednje vreme predmet intenzivnog preispitivanja i diskusije. Razlog su negativne strane njihove primene, kao što su posledice preteranog unošenja antibiotika u životnu sredinu i njihov efekat na korisne mikroorganizme, dospevanje ostataka antibiotika u lanac ishrane, efekat smanjenih doza na pojavu otpornosti štetnih vrsta bakterija, ne samo fitopatogenih, već i patogena ljudi, a takođe i direktan efekat na ljudsku populaciju, koja na ovaj način biva izložena njihovom dejstvu. Stoga su zemlje, koje su među prvima počele da primenjuju antibiotike u zaštiti bilja, prinuđene da ograničavaju njihovu primenu i pažnju usmeravaju na alternativna sredstva (Obradović i Ivanović, 2007). Antibiotici su registrovani za upotrebu u zemljama Severne i Južne Amerike, Japanu i Tajvanu. Zakonska regulativa Evropske unije ne dozvoljava upotrebu antibiotika u poljoprivredi. Primena antibiotika u poljoprivredi, takođe, nije dozvoljena u Srbiji.

U svetu, najčešće primenjivani antibiotici za suzbijanje bakteriozne pegavosti su streptomycin, kasugamicin i oksitetraciklin. Primena streptomicina u usevu paradajza i paprike za suzbijanje *X. euvesicatoria* bila je kratkotrajna, jer je već početkom šezdesetih godina prošlog veka, otkrivena rezistentna populacija ove bakterije (Stall & Thayer, 1962). Streptomycin-rezistentni sojevi su se brzo proširili i postali široko rasprostranjeni (Argentina, Brazil, Kalifornija, Florida, Džordžija, Ohajo, Pensilvanija, Tajvan), primoravajući istraživače da tragaju za drugim rešenjima (Obradović i sar., 2004a).

NOVI PRAVCI ZAŠTITE PAPRIKE I PARADAJZA OD BAKTERIOZNE PEGAVOSTI

Primena aktivatora sistemичne otpornosti

Prema novijim literaturnim podacima, biološke metode (primena bakteriofaga) i neke novije alternativne metode (aktivatori otpornosti), ukazuju na mogućnost razvoja efikasne strategije za suzbijanje vrste *X. euvesicatoria* (Obradović i sar., 2005).

Indukovana sistemična otpornost biljaka (Systemic Acquired Resistance, SAR) prvi put je opisana 1901. godine. Prvi aktivatori otpornosti bili su salicilna kiselina i 2,6-dihlor-izonikotinska kiselina, ali zbog njihove fitotoksičnosti za većinu biljaka nisu komercijalno primenjivani (Agrios, 2005). Acibenzolar-S-metil (ASM) je prvi aktivator sistemične otpornosti kompanije Syngenta Crop Protection Inc. koji je komercijalno primenjivan i nalazi se u prometu u SAD pod imenom Actigard, a u Evropi pod nazivom Bion. ASM poseduje odličan potencijal za suzbijanje bakterijske pegavosti paradajza, međutim, neka istraživanja su pokazala negativan efekat na biljke paradajza i ukupan prinos (Louws et al., 2001).

Harpin protein, izolovan iz bakterije *Erwinia amylovora*, izaziva kompleksne metaboličke reakcije kod tretiranih biljaka i aktivira prirodnu otpornost. Primenjivan je u suzbijanju bakterijske pegavosti paradajza (Obradović i sar., 2004a i 2005). Transferom DNK fragmenta koji kodira produkciju harpin proteina u *Escherichia coli* soj K12, komercijalno se proizvodi preparat Messenger (Eden Bioscience Corp.). Klasifikovan je kao biohemijski pesticid, IV grupa otrova. Harpin se ne može primeniti sa hlorisanom vodom zbog denaturacije proteina (Anonymous, 2002).

Obradović i sar. (2005) su proučavali efikasnost aktivatora otpornosti (acibenzolar-S-metil, harpin protein), specifičnih bakteriofaga, suspenzije bakterija (10^8 CFU/ml) sojeva antagonista (*Pseudomonas syringae* Cit 7, *Pseudomonas. putida* B56) i potencijalnih stimulatora rasta biljaka (*Bacillus pumilus* B122, *Pseudomonas. fluorescens* B130 (PGPR - plant growth promoting rhizobacteria) u suzbijanju *X. c. pv. vesicatoria* u usevu paradajza sorte Florida 47. Ogledi su izvedeni u uslovima staklenika. Kao kontrola korišćene su biljke tretirane vodom, a kao standardni tretman primenjen je bakar-hidroksid (Kocide 2000, Griffin Corp., 0,36%). U ovim eksperimentima, korišćena je suspenzija 6 sojeva bakteriofaga (Agriphage, AgriPhi Inc., 1% v/v) specifičnih prema rasi T3 *X. c. pv. vesicatoria*. Sojevi bakterija stimulatora rasta (*B. pumilus* B122, *P. fluorescens* B130) i antagonisti (*P. syringae* Cit7 i *P. putida* B56) nisu ispoljili značajan efekat u zaštiti paradajza od bakterijske pegavosti u uslovima veštačke inokulacije u stakleniku. Ovakav rezultat ukazuje na ograničeni spektar aktivnosti i malu konkurentsku sposobnost ovih sojeva u navedenim uslovima. Primena bakteriofaga u kombinaciji sa aktivatorima otpornosti značajno je umanjila intenzitet bolesti, ukazujući na mogućnost integrisane primene preparata Agriphage u suzbijanju bakterijske pegavosti. Primena harpin proteina nije aktivirala odbrambeni mehanizam paradajza prema patogenu, ukazujući na zanemarljiv efekat ovog proizvoda na intenzitet oboljenja. Za razliku od ovih tretmana, ASM je efikasno aktivirao otpornost tretiranih biljaka paradajza prema *X. c. pv. vesicatoria*, sprečavajući u potpunosti pojavu karakterističnih simptoma bolesti. Ovaj tretman, u kombinaciji sa bakteriofagima poslužio je kao osnova za razvoj buduće strategije integralne zaštite paradajza od prouzrokovaca bakterijske pegavosti u polju (Obradović i sar., 2005).

U eksperimentima u polju, sprovedenim tokom tri uzastopne godine, ASM primenjen samostalno ili u kombinaciji sa bakteriofagima značajno je smanjio intenzitet bakterijske pegavosti paradajza u poređenju sa drugim tretmanima (Obradović, 2004a). Proučavanja su izvođena u centralnoj i severnoj Floridi, u uslovima suptropske klime, tokom jeseni 2001. i proleća i jeseni 2002. godine. Acibenzolar-S-metil u kombinaciji sa bakteriofagima, ili bakteriofagi i harpin protein, značajno su redukovali bakterijsku pegavost u odnosu na druge tretmane. Međutim, u pogledu prinosa nije postojala značajna razlika, u odnosu na standard ili netretiranu kontrolu. Grupisanjem tretmana gde su primenjivani bakteriofagi

utvrđeno je da se prinos značajno povećao u odnosu na tretmane bez bakteri-
ofaga. Sojevi bakterija stimulatora rasta (PGPR) i antagonisti nisu ispoljili znača-
jan efekat u kontroli ovog patogena u uslovima otvorenog polja.

Abbasi i sar. (2002a) proučavali su efekat amonijum-lignosulfonata (ALS) do-
bijenog u procesu prerade drvene mase u kombinaciji sa đubrivom kalijum-fosfat
(KP), dok je acibenzolar-S-metil (ASM) korišćen kao standardan tretman. Svi tret-
mani su značajno smanjili bakterioznu pegavost paradajza i paprike u uslovima
zaštićenog prostora i otvorenog polja. Međutim, tri navedena tretmana nisu se
statistički značajno razlikovala u prinosu u odnosu na netretiranu kontrolu. ASM
je zapravo smanjio ukupan prinos. Nije bilo uočljivog fitotoksičnog efekta ALS i KP
na lišću paprike (Abbasi et al., 2002a).

Efikasnost vodenog ekstrakta komposta poreklom iz fabrike za preradu otpada
u suzbijanju bakterijske pegavosti paradajza proučavali su Abbasi i sar. (2002b).
Ogledi su postavljeni u organskom i konvencionalnom sistemu proizvodnje u drža-
vi Ohajo. Ogledi su izvedeni 1998. godine i uslovi su pogodovali razvoju patogena.
Korišćenjem vodenog ekstrakta komposta u organskoj proizvodnji, za 33 % je pov-
ećana količina plodova koji se mogu izneti na tržište, u odnosu na kontrolu. U
konvencionalnom sistemu proizvodnje, vodeni ekstrakt kompostirane trave uma-
njio je intenzitet oboljenja 1997. godine, koja je bila pogodna za razvoj patogena.
ASM je u ovoj studiji korišćen kao kontrolni tretman i uticao je na smanjenje
intenziteta bakterijske pegavosti paradajza i povećanje prinosa plodova koji se
mogu plasirati (Abbasi et al., 2002b).

Abassi i sar. (2003) su proučavali primenu nim ulja iz tropske biljke *Azadirachta
indica* i ribljeg ulja u zaštiti paprike i paradajza, dve uzastopne sezone, u zaštićen-
om prostoru i u uslovima otvorenog polja. Intenzitet bolesti bio je smanjen na
plodovima paradajza, ali rezultati često nisu bili statistički značajni (Abassi et al.,
2003).

Efekat folijarne primene vodenog ekstrakta komposta u suzbijanju bakterijske
pegavosti paradajza proučavali su Al-Dahmani i sar. (2003). U eksperimentima su
korišćeni vodeni ekstrakti komposta različitog porekla, kravlje stajnjake, kom-
post borove kore, kompost sa organske farme i kompost pokošene trave. Vodeni
ekstrakt komposta sterilisan je autoklaviranjem ili filtracijom pre primene. Svi ek-
strakti komposta ispoljili su statistički značajnu efikasnost u zaštićenom prostoru
u odnosu na netretiranu kontrolu. Najveću efikasnost ispoljio je vodeni ekstrakt
komposta kravlje stajnjake. Step en zaštite obezbeđen primenom najefikasnijeg
vodenog ekstrakta komposta nije se razlikovao od zaštite koju je ispoljio ASM koji
je korišćen kao kontrola. Međutim, u uslovima otvorenog polja, 1997. godine, u
uslovima povoljnim za razvoj patogena, vodeni ekstrakt komposta nije značajno
umanjio bakterijsku pegavost paradajza, a ni druga oboljenja. Primenom kombi-
nacije hlorotalonila i bakar-hidroksida sa ili bez ASM ispoljena je veća efikasnost
u kontroli bolesti (Al-Dahmani i sar., 2003).

Efikasnost fungicida famoksadona u kombinaciji sa cimoksanilom, ASM i
Bacillus subtilis u suzbijanju bakterijske pegavosti paradajza proučavali su Roberts
i sar. (2008). U ovoj studiji korišćen je antagonistički soj bakterije *Bacillus subtilis*,
QST 713 preparat Serenade Max. Bakar-hidroksid u kombinaciji sa mankozebom
korišćen je kao standardni tretman. Ogledi su izvedeni u uslovima otvorenog polja
uz primenu različitih kombinacija ovih jedinjenja u različitim vremenskim inter-
valima. Svi programi zaštite su značajno umanjili intenzitet bakterijske pegavosti
paradajza u odnosu na netretiranu kontrolu. Takođe, svi primenjeni programi bili
su jednako efikasni u odnosu na standardni tretman bakar-hidroksidom u kom-

binaciji sa mankozebom i nisu se značajno razlikovali. Programi zaštite čija su osnova ASM i *Bacillus subtilis* značajno su umanjili intenzitet bakteriozne pegavosti u odnosu na netretiranu kontrolu i nisu se značajno razlikovali u odnosu na standardni tretman. U eksperimentu *in vitro* nije potvrđeno direktno baktericidno dejstvo famoksadona u kombinaciji sa cimoksanilom na *Xanthomonas* vrste. Međutim, u ogledima u staklari i uslovima otvorenog polja, ove aktivne supstance su umanjile intenzitet bakteriozne pegavosti paradajza. Autori preporučuju primenu kombinacije ove dve aktivne supstance, kao alternativno rešenje u integralnoj zaštiti bakteriozne pegavosti paradajza (Roberts et al., 2008).

Efikasnost bioloških i hemijskih baktericida u suzbijanju bakteriozne pegavosti paprike proučavali su Šević i sar. (2010). U ogledima u stakleniku i fitokomori, proučena je efikasnost *Bacillus subtilis* (soj AAac i QST 713), bakteriofaga (soj KΦ-1), ASM, jedinjenja bakra i antibiotika (streptomycin i kasugamicin), u uslovima veštačke inokulacije. Najveću efikasnost u zaštiti paprike od prouzrokovaca bakteriozne pegavosti ispoljio je ASM (93%). U kasnijim istraživanjima, Šević i sar. (2011) su potvrdili rezultate efikasnosti primene ASM-a u kontroli *X. euvesicatoria* (soj KFB 13). Najveću efikasnost, 97 %, ispoljio je ASM primenjen u koncentraciji od 0,005 %, dva puta, 9 i 4 dana pre inokulacije. Međutim, ova koncentracija ispoljila je negativan efekat na porast biljaka paprike, za razliku od tretmana ASM-om u koncentracijama od 0,003 % i 0,0024 % (Šević i sar., 2010, 2011, 2011a).

Primena ASM pokazala se kao izuzetno efikasna u kontroli bakteriozne pegavosti u kontrolisanim uslovima. U literaturi se navodi da je efikasnost ASM na istom nivou kao i efikasnost nekih standardnih baktericida. Nasuprot ovim, postoje podaci koji govore o varijabilnoj efikasnosti ASM u polju. Varijabilna efikasnost ASM-a je očekivana, s obzirom da se ispoljava kao odgovor biljke na pokušaj infekcije i uslovljena je genotipom, fiziološkim statusom biljke i uslovima spoljne sredine (Gašić i Obradović, 2012). Romero i sar. (2001) su proučavali efikasnost ASM-a primenjenog na različite genotipove paprika u tipu babura. Utvrdili su da je indukova sistemična otpornost aktivirana kod svih genotipova paprike i ispoljena 3 dana nakon primene, dok se njeno dejstvo ispoljavalo tokom dve nedelje nakon primene. Primenom ASM-a u intervalima od 14 dana, u uslovima otvorenog polja, zaštita paprike od bakteriozne pegavosti je bila iste efikasnosti kao i kod standardnog tretmana bakrom u kombinaciji sa mankozebom. Međutim, prinos paprike je značajno smanjen kod jednog genotipa od ukupno šest proučavanih.

Pored brojnih prednosti koje navode mnogi autori, primena ASM-a može negativno uticati na prinos paprike. Za maksimalnu efikasnost treba pažljivo podesiti koncentraciju preparata i vreme između tretiranja, jer prekomerna eksploatacija odbrambenog mehanizma biljke može dovesti do preopterećenja metabolizma, zaostajanja u porastu i smanjenja produktivnosti (Gašić i Obradović, 2012).

Primena bakteriofaga

Bakteriofagi su virusi koji zaražavaju bakterijsku ćeliju. Veoma su specifični za bakterijske i ne parazitiraju eukariotske ćelije. Specifični su prema domaćinu, tj. eliminišu samo kompatibilnu bakteriju, bez uticaja na ostale članove životne sredine (Gašić i sar., 2007). Umnožavaju se samo dok postoji bakterija-domaćin i brzo se inaktiviraju kada je domaćin odsutan. Netoksični su i mogu se koristiti i kada upotreba hemijskih jedinjenja nije dozvoljena, kao što je slučaj u organskoj proizvodnji (Balogh et al., 2003). Jedna od prednosti bakteriofaga je i što se mogu primeniti standardnom opremom za zaštitu bilja i mogu se čuvati mesecima pri temperaturi 4 °C bez značajnog gubitka efikasnosti (Jones et al., 2007).

Isušivanje i ultraljubičasto zračenje negativno utiču na opstanak faga u spoljnoj

sredini (Iriarte et al., 2007, Jones et al., 2007, Gašić i sar., 2009). U dosadašnjim istraživanjima praktične primene faga u zaštiti bilja čest problem je bila nedovoljna perzistentnost faga na površini biljnog tkiva usled isušivanja i pogubnog dejstva sunčevog zračenja. Drastičan pad populacije primenjenih faga u spoljnoj sredini imao je za posledicu promenljivu efikasnost u suzbijanju bakterija i nestandardne rezultate, što je bila glavna smetnja njihovoj masovnijoj primeni (Jones et al., 2007). Prilagođavanjem vremena aplikacije pokazalo se da se tretmanima biljaka u sumrak, pred zalazak sunca, može izbeći negativan uticaj dnevnog svetla i značajno produžiti opstanak faga, čime se povećava šansa za ostvarenje kontakta faga sa bakterijom domaćinom (Jones et al., 2002, 2007).

Balogh i sar. (2003) su proučavali uticaj formulisanja bakteriofaga radi povećanja njihove efikasnosti i perzistentnosti u spoljnoj sredini. Proučavanjem više potencijalnih supstanci, utvrđeno je da se efikasnost faga značajno povećava formulisanjem obranim mlekom u prahu i saharozom neposredno pre upotrebe suspenzije faga za zaštitu paradajza od bakterijske pegavosti (Balogh et al., 2003; Obradović i sar., 2004a)

Usled problema pojave otpornosti bakterija prema fagima, Jackson (1989) je razvio nov sistem primene faga za suzbijanje bakterioza u vidu mešavine h-mutanta. H-mutanti su fagi koji poseduju sposobnost da liziraju soj bakterije rezistentan prema materinskim fagima. Stoga oni imaju širi spektar domaćina u odnosu na materinske fage. Primenom ovog modela postignuti su dobri rezultati u suzbijanju prouzrokovaca bakterijske pegavosti paradajza *X. perforans*, kako u stakleniku, tako i u poljskim uslovima (Flaherty et al., 2000). Ideja Jakson-a primene h-mutant faga iskorišćena je u projektu razvoja nove strategije zaštite paradajza od prouzrokovaca bakterijske pegavosti. Flaherty i sar. (2000) su pokazali da se ovakvom primenom faga mogu ostvariti zadovoljavajući rezultati. Međutim, ispostavilo se da efikasnost faga umnogome zavisi od njihove osetljivosti prema uslovima spoljne sredine (isušivanje, UV zračenje) i sposobnosti da održavaju svoju populaciju na biljkama. Posle istraživanja nekoliko načina primene faga, pokazalo se da suspenzija h-mutanata faga, formulisana obranim mlekom u prahu i saharozom, primenjena u predvečerje, obezbeđuje značajno manji stepen zaraze nego standardni tretman bakarnim preparatima ili netretirana kontrola (Flaherty et al., 2000; Balogh et al., 2003)

Gašić i sar. (2010, 2011) su proučavali efikasnost suspenzije faga u kontroli bakterijske pegavosti paprike. Efikasnost suspenzije faga KΦ-1 (108 PFU/ml) proučena je tretiranjem veštački inokulisanih biljaka paprike u fazi četiri lista u stakleniku. Za inokulaciju je korišćen soj bakterije *X. euvesicatoria* KFB 189, osetljiv prema jedinjenjima bakra, koncentracije 108 i 106 CFU/ml. Rezultati israživanja su pokazali da se primenom faga 2 sata pre i istovremeno sa inokulacijom biljaka paprike može značajno smanjiti intenzitet bakterijske pegavosti u uslovima staklenika.

U pogledu primene bakteriofaga u praksi, najdalje se otišlo njihovom integracijom u novu strategiju zaštite paradajza od bakterijske pegavosti, i to u područjima gde klima povoljno utiče na nastanak i razvoj ovog oboljenja (Obradović i sar., 2007; 2008a; 2009). U takvim uslovima zaštita paradajza od bakterijske pegavosti predstavlja nerešiv problem. Usled pojave novih rasa bakterije *X. euvesicatoria* i razvoja otpornosti ovog patogena prema baktericidima, gajenje otpornih genotipova i primena preparata na bazi streptomicina ili bakra ne obezbeđuju zadovoljavajući efekat zaštite (Momol et al., 2002; Obradović i sar., 2004a). Stoga su započeta proučavanja mogućnosti primene bioloških agenasa, superparazita i antagonis-

ta navedenog patogena, bakterija stimulatora rasta biljaka i hemijskih supstanci aktivatora sistemne otpornosti, u cilju integracije njihovih pozitivnih efekata u jedinstvenu i održivu strategiju zaštite. Na osnovu ranije ispoljene zadovoljavajuće efikasnosti u eksperimentima u stakleniku, tretmani bakteriofagima i aktivatorima otpornosti (ASM i Harpin), kao i njihove međusobne kombinacije, odabrani su za dalja istraživanja u polju. Još u ogledima u zaštićenom prostoru uočen je do tada nezabeležen pozitivan efekat integracije tretmana fagima i aktivatorima otpornosti (Obradović i sar., 2005). Primenom acibenzolar-S-metila, u biljkama paradajza starosti šest nedelja došlo je do aktiviranja otpornosti prema patogenu do nivoa hipersenzitivnosti. U uslovima veoma povoljnim za ostvarenje infekcije i pri visokoj koncentraciji inokuluma (10^8 bakterija/ml), to je imalo za posledicu vidljive nekroze biljnog tkiva na mestima prodora bakterija, podsećajući na simptome prirodne infekcije. Iako je ovim dalje širenje patogena na tretiranim biljkama bilo zaustavljeno, nekroza tkiva je umanjila asimilativnu površinu lišća i mogla je da uspori normalan rast i razvoj biljaka. Takva reakcija biljaka u polju, pri jačem intenzitetu zaraze, prouzrokovala bi dodatne negativne efekte i stoga je bilo potrebno naći način da se nivo otpornosti biljaka zadrži, ali da se smanji intenzitet njenog pobuđivanja i izbegne pojava nekroze tkiva. Kombinacija tretmana aktivatora otpornosti i bakteriofaga donela je rešenje nastalog problema. Ispostavilo se da su bakteriofagi uspešno smanjili populaciju bakterija na površini lišća umanjujući i broj prodora patogena kroz prirodne otvore, a samim tim i intenzitet reakcije biljke čija je otpornost pobuđena preparatom acibenzolar-S-metil. Naredni eksperimenti su izvedeni na oglednim poljima Florida Univerziteta, u uslovima suptropske klime, izuzetno povoljnim za pojavu bakteriozne pegavosti. Rezultati oglada izvedenih u stakleniku (Obradović i sar., 2005) i tokom tri sezone na polju (Obradović i sar., 2004a), ukazali su da primena selekcionisanih sojeva bakteriofaga, formulisanih obranom mlekom i saharozom, u kombinaciji sa aktivatorima sistemne otpornosti biljaka, pruža efikasnu zaštitu paradajza, čak i u uslovima suptropske klime. Navedena istraživanja doprinela su da tretman bakteriofagima, integrisan sa drugim merama zaštite, postane deo standardnog programa integralne zaštite paradajza od bakteriozne pegavosti na poljima Floride i južnih SAD, što predstavlja prvi praktičan primer rutinske primene bakteriofaga u zaštiti bilja u svetu (Momol et al., 2005; Jones et al., 2007; Obradović i sar., 2008b), a preparat bakteriofaga je u SAD sada dostupan za komercijalnu upotrebu (Agriphage, OmniLytics Inc., Salt Lake City, UT, EPA Registration # 67986-1) (Jones et al., 2007).

ZAKLJUČAK

Suzbijanje prouzrokovala bakteriozne pegavosti paprike i paradajza predstavlja veliki izazov, naročito u godinama kada vremenski uslovi pogoduju razvoju ove bolesti. Nedostatak efikasnih baktericida primorava fitopatologe da tragaju za novim alternativnim rešenjima za kontrolu ovog patogena. Jedino se integracijom pozitivnog efekta različitih metoda može postići odgovarajući efekat zaštite. Biološke metode (primena bakteriofaga) i neke novije alternativne metode (aktivatori sistemne otpornosti), ukazuju na mogućnost razvoja efikasne strategije za suzbijanje *X. euvesicatoria*. Poseban kvalitet u primeni ASM je što se kod nekih biljaka može postići povećana otpornost prema više patogena. Istraživanja mogućnosti primene bakteriofaga i aktivatora sistemne otpornosti rezultirala su integracijom njihovih pozitivnih efekata u jedinstvenu i održivu strategiju zaštite paradajza od bakteriozne pegavosti. Ova kombinacija tretmana postala je deo standardnog programa zaštite paradajza u SAD i zaživela je kao strategija koja se koristi u praksi.

Zahvalnica

Ovaj rad je realizovan u okviru projekta III46008 "Razvoj integrisanih sistema upravljanja štetnim organizmima u biljnoj proizvodnji sa ciljem prevazilaženja rezistentnosti i unapređenja kvaliteta i bezbednosti hrane", koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije u okviru programa Integrisanih i interdisciplinarnih istraživanja za period 2011-2015. godine.

LITERATURA

- Abbasi, P. A., Al-Dahmani, J., Sahin, F., Hoitink, H. A. J., Miller, S. A. (2002a): Effect of compost amendments on disease severity and yield of tomato in conventional and organic production systems. *Plant Disease*, 86, 156-161.
- Abbasi, P. A., Soltani, N., Cuppels, D. A., Lazarovits, G. (2002b): Reduction of bacterial spot disease severity on tomato and pepper plants with foliar applications of ammonium lignosulfonate and potassium phosphate. *Plant Disease*, 86, 1232-1236.
- Abbasi, P. A., Cuppels, D. A., Lazarovits, G. (2003): Effect of foliar applications of neem oil and fish emulsion on bacterial spot and yield of tomatoes and peppers. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 25, 41-48.
- Adaskaveg, J. E., Hine, R. B. (1985): Copper tolerance and zinc sensitivity of Mexican strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. *Plant Disease*, 69, 993-999.
- Agrios, G. N. (2005): *Plant Pathology* (5th edition). Elsevier Academic Press, Burlington, MA.
- Al-Dahmani, J. H., Abbasi, P. A., Miller, S. A., Hoitink, H.A.J. (2003): Suppression of bacterial spot of tomato with foliar sprays of compost extracts under greenhouse and field conditions. *Plant Disease*, 87, 973-919.
- Anonymous (2002): Biopesticide regulatory action document Harpin protein. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs PC Code 006477.
- Arsenijević, M. (1997): Bakterioze biljaka. S-print, Novi Sad.
- Balogh, B., Jones, J. B., Momol, M. T., Olson, S. M., Obradović, A., King, B., Jackson, L. E. (2003): Improved Efficacy of Newly Formulated Bacteriophages for Management of Bacterial Spot of Tomato. *Plant Disease* 87, 949-954.
- Dye, D. W., Starr, M. P., Stolp, H. (1964): Taxonomic clarification of *Xanthomonas vesicatoria* based upon host specificity, bacteriophage sensitivity and cultural characteristics. *Phytopathology*, 51, 394 - 407.
- Flaherty, J. E., Jones, J. B., Harbaugh, B. K., Somodi, G. C., Jackson, L. E. (2000): Control of bacterial spot on tomato in the greenhouse and field with h-mutant bacteriophages. *HortScience*, 35, 882-884.
- Gašić, K., Ivanović, M., Obradović, A. (2007): Proučavanje specifičnosti bakteriofaga prema *Xanthomonas* sp. patogena paprike i paradajza. XIII simpozijum sa savetovanjem o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea: 121-122.
- Gašić, K., Ignjatov, M., Ivanović, M., Čalić, A., Kuzmanović, N., Obradović, A. (2010): Bakteriofagi kao biološki agensi u kontroli bakterijske pegavosti paprike. X Savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea: 63-64.
- Gašić, K. (2011): Biologija bakteriofaga prirodnih neprijatelja *Xanthomonas* spp. patogena paprike. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Gašić, K., Ivanović, M., Čalić, A., Obradović, A. (2012): Ecology of *Xanthomonas euvesicatoria* bacteriophages. VI Congress of plant protection. Zlatibor, Book of abstracts: 53.
- Gašić, K., Obradović, A. (2012): Indukovana otpornost biljaka. Ratarstvo i povrtarstvo, 49, 326-334.
- Iriarte, B. F., Balogh, B., Momol, M. T., Smith, M. L., Wilson, M., Jones, J. B. (2007): Factors Affecting Survival of Bacteriophage on Tomato Leaf Surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 1704-1711.

- Jackson, L. E. (1989): Bacteriophage prevention and control of harmful plant bacteria. US Patent No. 4,828,999.
- Jones, J. B., Phoronezny, K. L., Stall, R. E., Jones, J. P. (1986) Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Florida on tomato crop residue, weeds, seeds, and volunteer tomato plants. *Phytopathology*, 76, 430-434.
- Jones, J. B., Stall, R. E. (1998): Diversity among xanthomonads pathogenic on pepper and tomato. *Annual Review Phytopathology*, 36, 41-58.
- Jones, J. B., Obradović, A., Balogh, B., Momol, M. T., Jackson, L. E. (2002): Control of bacterial leaf spot on tomato with bacteriophages. *Phytopathology*, 92: S108.
- Jones, J. B., Lacy, H. G., Bouzar, H., Stall, E. R., Schaad, W. N. (2004): Reclassification of the Xanthomonads Associated with Bacterial Spot Disease of Tomato and Pepper. *System. Appl. Microbiol.*, 27, 755-762. <http://www.elsevier.de/syapm>
- Jones, J. B., Jackson, L. E., Balogh, B., Obradović, A., Iriarte, F. B., Momol, M. T. (2007): Bacteriophages for plant disease control. *Annual Review of Phytopathology*, 45, 245-262.
- Louws, E. J., Wilson, M., Cambell, H. L., Cuppeles, D. A., Jones, J. B., Shoemaker, P. B., et al. (2001) Field control of bacterial spot and bacterial speck to tomato and pepper. *Plant Disease*, 85, 481-488.
- Marco, G. M., Stall, R. E. (1983) Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper. *Plant Disease*, 67, 779-81.
- Minsavage, G. V., Canteros, B. I., Stall, R. E. (1990): Plasmid-mediated resistance to streptomycin in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology*, 80, 719-23.
- Momol, M.T. and Jackson, L.E. (2006): Management of bacterial spot on tomatoes with bacteriophages. *Proceedings 1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Diseases*, Darmstadt, Germany - Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtschaft., 408, 154-157.
- Obradović, A., Jones, J. B., Momol, M. T., Balogh, B. and Olson, S. M. (2004a): Management of Tomato Bacterial Spot in the Field by Foliar Applications of Bacteriophages and SAR Inducer. *Plant Disease*, 88, 736-740.
- Obradović A., Mavridis A., Rudolph K., Janse J.D., Arsenijević M., Jones J.B., Minsavage G.V., Wang J.F. (2004b): Characterization and PCR-based typing of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from peppers and tomatoes in Serbia. *European Journal of Plant Pathology*, 110, 285-292.
- Obradović, A., Jones, J. B., Momol, M. T., Olson, S. M., Jackson, L. E., Balogh, B., Guven, K. and Iriarte, F. B. (2005): Integration of Biological Control Agents and Systemic Acquired Resistance Inducers Against Bacterial Spot of Tomato. *Plant Disease*, 89, 712-716.
- Obradović, A., Ivanović, M. (2007): O primeni antibiotika u poljoprivredi. *Biljni lekar*, 1, 52-59.
- Obradović, A., Gašić, K., Stepanović, M. (2008a): Bakteriofagi u zaštiti bilja. *Biljni lekar*, 1, 36-44.
- Obradović, A., Jones, J.B., Balogh, B., Momol, M.T. (2008b): Integrated management of tomato bacterial spot. In: *Integrated Management of Plant Diseases Caused by Fungi, Phytoplasma and Bacteria* (A. Ciancio and K.G. Mukerji, eds.), Springer Science & Business Media B.V., pp. 211-223.
- Obradović, A. (2009): Bakteriofagi kao baktericidi u zaštiti bilja. *Pesticidi i fitomedicina*, 24, 9-17.
- Roberts, P. D., Momol, M. T., Ritchie, L., Olson, S. M., Jones, J. B., Balogh, B. (2008): Evaluation of spray programs containing famoxadone plus cymoxanil, acibenzolar-S-methyl, and *Bacillus subtilis* compared to copper sprays for management of bacterial spot on tomato. *Crop Protection*, Vol. 27, No. 12, pp. 1519-1526.

- Romero, A. M., Kousik, C. S., Ritchie, D. F. (2001): Resistance to bacterial spot in bell pepper induced by acibenzolar-S-methyl. *Plant Disease*, 85, 189-194.
- Ritchie, D. F., Dittapongpitch, V. (1991): Copper- and streptomycin-resistant strains and host differentiated races of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in North Carolina. *Plant Disease*, 75, 733-736.
- Stall, R. E., Thayer, P. L. (1962): Streptomycin resistance of the bacterial spot pathogen and control with streptomycin. *Plant Disease*, 45, 389-92
- Stall, R. E., Beaulieu, C., Egel, D., Hodge, N. C., Leite, R. P., Minsavage, G. V., Bouzar, H., Jones, J. B., Alvarez, A. M., Benedict, A. A. (1994): Two genetically diverse groups of strains are included in a pathovar of *Xanthomonas campestris*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44, 47 - 53.
- Šević, M., Gašić, K., Mijatović, M., Obradović, A. (2010): Proučavanje efikasnosti nekih baktericida u suzbijanju bakterijske pegavosti paprike. X Savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea: 61.
- Šević, M., Gašić, K., Đorđević, M., Ignjatov, M., Mijatović, M., Obradović, A. (2011): Efficacy of some bactericides in control of bacterial spot of papper. Book of Abstracts 5th Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes, Tirana, Albania: 41.
- Šević, M., Gašić, K., Ignjatov, M., Đorđević, M., Mijatović, M., Obradović, A. (2011a): Pručavanje efikasnosti Acibenzolar-S-metil-a u suzbijanju prouzrokovala bakterijske pegavosti paprike. XI Savetovanje o zaštiti bilja, Zlatibor, Zbornik rezimea: 74.
- Šutić, D. (1957): Bakterioze crvenog patlidžana. Institut za zaštitu bilja, Beograd. Posebna izdanja, 1-67.

Abstract

NEW STRATEGIES FOR PEPPER AND TOMATO BACTERIAL SPOT CONTROL

Milan Šević¹, Katarina Gašić², Aleksa Obradović³

¹Institute of Vegetable Crops, Smederevska Palanka

²Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

³University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Belgrade

E-mail: sevicmilan@yahoo.com

Bacterial spot, caused by bacteria that belong to *Xanthomonas* complex, is one of the widespread and economically important disease of pepper and tomato. Growing resistant genotypes, use of treatments based on copper compounds or streptomycin do not provide efficient control of this disease due to the appearance of new races of bacteria and development of strains resistant to antibiotics and copper compounds. Pepper and tomato producers do not have adequate resources for pathogen control since standard bactericides are not effective enough if weather conditions are favorable for the disease development. Due to lack of resistant cultivars and effective means of protection, researchers have searched for alternative solutions that would provide effective control of this disease. Only integration of different control methods can enable positive effect and achieve an adequate crop protection. Biological methods (use of bacteriophages) and some recent alternative treatments (Systemic Acquired Resistance inducers), have provided the possibility of developing an effective strategy for *X. euvesicatoria* control.

Key words: pepper, tomato, *Xanthomonas euvesicatoria*, copper compounds, antibiotics, bacteriophages, Systemic Acquired Resistance